FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human CD43
Clon DF-T1
Ready-to-Use
(Dako Autostainer/Autostainer Plus)

Nº de catálogo IS636

Uso previsto

Para uso en diagnóstico *in vitro*.

FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human CD43, Clon DF-T1, Ready-to-Use, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) está indicado para su uso en inmunohistoquímica junto con los instrumentos Dako Autostainer/Autostainer Plus. Los anticuerpos contra CD43 pueden resultar útiles en la identificación linfomas de células B de bajo grado, linfomas de células T periféricas y trastornos mieloides (1). La interpretación de los resultados de cualquier tinción o su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos con controles adecuados y debe evaluarla un anatomopatólogo cualificado en el contexto de la historia clínica del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Sinónimos del antígeno

Leucosialina, gpL115, sialoforina, leucocito sialoglucoproteina (2).

Resumen y explicación

La molécula CD43 humana es una proteína de membrana integral de cadena simple con un peso molecular aparente de 95.000 y 135.000 (2). El dominio extracelular de amino ácido 234 de tipo mucina es fuertemente glucosilado con 70–85 cadenas de carbohidrato O-ligadas que contienen el epítopo sialil-Lewis X. Por lo tanto, la molécula puede actuar como ligando de P-selectina y E-selectina. Además, el antígeno CD43 puede asociarse con la molécula-1 de adhesión intercelular (ICAM-1, CD54). Resultados contradictorios dificultaron la tarea de llegar a un acuerdo desde el punto de vista fisiológico de la función de CD43; y hasta la fecha se ha suministrado información para corroborar las siguientes funciones: antiadhesión, adhesión, señalización, e interacción citoesquelética (3)

La molécula CD43 se expresa, generalmente en niveles altos, en todos los leucocitos, excepto la mayoría de los linfocitos B en reposo. La expresión en plaquetas es débil. Las moléculas CD43 se pierden velozmente de la superficie de linfocitos y neutrófilos debido al desprendimiento proteolítico después de la activación con diversos estímulos (2). A pesar de que los linfocitos B pequeños normales son CD43 negativos, la mayoría de los linfomas de células B de bajo grado son positivos. Sin embargo, la leucemia de células pilosas, el linfoma MALT y el linfoma de centro folicular en general son CD43 negativos. Los linfoma de células T periféricas son, con más frecuencia, positivos que negativos. Se realizó un estudio en 28 tumores mieloides extramedulares; todos fueron altamente CD43 positivos independientemente de la diferenciación de las células mieloides (1).

Consulte las *Instrucciones generales para la tinción inmunohistoquímica* de Dako o las instrucciones del sistema de detección de los procedimientos de IHQ para: 1) Principio del procedimiento, 2) Material necesario pero no suministrado, 3) Almacenamiento, 4) Preparación de la muestra, 5) Procedimiento de tinción, 6) Control de calidad, 7) Solución de problemas, 8) Interpretación de la tinción, 9) Limitaciones generales.

Reactivo suministrado

Anticuerpo monoclonal de ratón listo para usar suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/L de azida de sodio.

Clon: DF-T1(4). Isotipo: IgG1, kappa.

Inmunógeno

Células KG1 (línea celular mieloblástica).

Especificidad

La transferencia de Western y la reactividad inmunohistoquímica del anticuerpo resulta idéntica a la de los anticuerpos con células CD43 agrupadas. Además, el anticuerpo reacciona intensamente a las células COS-7 (línea celular de riñón de mono) transfectadas con el gen CD43, mientras que las células control transfectadas sólo con el vector son negativas (4).

El anticuerpo produce una rápida y fuerte agregación entre los leucocitos normales y entre las líneas celulares T y mieloides/monocíticas (5).

Precauciones

1. Para usuarios profesionales.
2. Este producto contiene azida sódica (NaN_3), un compuesto químico altamente tóxico en su forma pura. Aunque a las concentraciones presentes en el producto no está clasificado como peligroso, la azida de sodio puede reaccionar con cañerías de plomo y cobre formando acumulaciones de azidas metálicas altamente explosivas. Una vez desechado el producto, deje correr abundante cantidad de agua para evitar acumulaciones de azidas metálicas en las cañerías.
3. Al igual que con cualquier producto de origen biológico, deberán aplicarse los procedimientos de manipulación adecuados.
4. Utilice el equipo de protección personal adecuado para evitar el contacto con los ojos y la piel.
5. La solución que no se utilice deberá desecharse con arreglo a las normativas locales, provinciales y nacionales.

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17

Almacenamiento

Almacenar a 2–8 ℃. No utilizar después de la fecha de caducidad impresa en el vial. Si los reactivos se almacenan en condiciones diferentes a las especificadas, es responsabilidad del usuario comprobar dichas condiciones. No existen signos evidentes que indiquen inestabilidad de este producto. Por lo tanto, los controles positivo y negativo deberán analizarse de manera simultánea con las muestras del paciente. Si observa una tinción inesperada que no puede explicarse por variaciones en los procedimientos del laboratorio y sospecha de la existencia de un problema con el anticuerpo, póngase en contacto con nuestros servicios técnicos.

Preparación de las muestras incluido material necesario pero no suministrado

El anticuerpo puede utilizarse para marcar cortes de tejido fijados con formol e incluidos en parafina. Las muestras de tejido deben cortarse en secciones de aproximadamente 4 µm.

Se requiere el tratamiento previo con recuperación del epítopo inducida por calor (HIER) usando Dako PT Link (nº de catálogo PT100/PT101). Para más detalles, consulte la Guía del usuario de PT Link. Se obtienen resultados óptimos al pretratar los tejidos con EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (nº de catálogo K8010/K8004).

Cortes incluidos en parafina: se recomienda el tratamiento previo de los cortes de tejido fijados en formol e incluidos en parafina siguiendo el procedimiento de preparación de la muestra 3 en 1 para Dako PT Link. Siga el procedimiento previo al tratamiento explicado en el prospecto de la EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (nº de catálogo K8010/K8004). Nota: Después de la tinción, se deben deshidratar, enjuagar y montar los cortes usando un medio de montaje permanente.

Cortes desparafinados: se recomienda el tratamiento previo de los cortes de tejido desparafinados, fijados en formol e incluidos en parafina usando Dako PT Link y siguiendo el mismo procedimiento descrito para los cortes incluidos en parafina. Tras la tinción, los portaobjetos deben montarse utilizando un medio de montaje acuoso o permanente.

Los cortes de tejido no se deben secar durante el tratamiento ni durante el siguiente procedimiento de tinción inmunohistoquímica. Para una mejor adherencia de los cortes de tejidos a los portaobjetos, se recomienda el uso de FLEX IHC Microscope Slides (nº de catálogo K8020).

Procedimiento de tinción incluido material necesario pero no suministrado

El sistema de visualización recomendado es EnVision™ FLEX, High pH (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo K8010). Los pasos de tinción y los tiempos de incubación han sido preprogramados en el software de los instrumentos Dako Autostainer/Autostainer Plus usando los siguientes protocolos.

Plantilla del protocolo: FLEXRTU2 (volumen de aplicación 200 µL) o FLEXRTU3 (volumen de aplicación 300 µL)

Autoprogram: CD43 (sin contratinción) o CD43H (con contratinción)

El paso Auxiliar debe configurarse a “tampón de enjuague” en sesiones de tinción con ≤10 portaobjetos. En el caso de sesiones de tinción con >10 portaobjetos, el paso Auxiliar debe configurarse a “ninguno”. De esta manera se aseguran tiempos de lavado semejantes.

Todos los pasos de incubación deben realizarse a temperatura ambiente. Consulte el Manual del usuario para más detalles sobre el instrumento correspondiente. Si todavía no están disponibles los protocolos en el instrumento Dako Autostainer utilizado, comuníquese con el servicio técnico de Dako.

Las condiciones óptimas pueden variar según la muestra y el método de preparación, y deberán determinarse individualmente en cada laboratorio. Si el patólogo encargado de la evaluación desea otra intensidad de tinción, se puede solicitar información a un especialista en aplicaciones de Dako o a un especialista del servicio técnico para reprogramar el protocolo. Verifique que el rendimiento del protocolo ajustado siga siendo válido confirmando que el patrón de tinción sea idéntico al descrito en "Características de resultados".

Se recomienda la contratinción en hematoxilina usando EnVision™ FLEX Hematoxylin (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo K8018). Se recomienda un medio de montaje no acuoso permanente.

Los controles positivo y negativo deberán realizarse de manera simultánea empleando el mismo protocolo que para las muestras del paciente. El tejido de control positivo debe incluir amígdala, y las células y estructuras deben mostrar patrones de reacción como se describe para este tejido en "Características de resultados" en todas las muestras positivas. El reactivo de control negativo recomendado es FLEX Negative Control, Mouse (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo IS750).

Interpretación de la tinción

Las células marcadas con el anticuerpo muestran una tinción de membrana.

Características de rendimiento

Tejidos normales: la mayoría de las células en la corteza y médula del timo se ven fuertemente marcadas. Se realizó un análisis en 36 muestras con células plasmáticas reactivas que demostró un marcado de más del 1% de las células plasmáticas en el 28% de los casos (6). En la amígdala, las numerosas células T en la zona T muestran una reacción de tinción fuerte, mientras que las células T aisladas, así como los macrófagos, en los centros germinales muestran una reacción de moderada a fuerte.

Tejidos anormales: en malignidades hematolinfoides, 10/15 linfomas de células T fueron positivos al anticuerpo. De 20 linfomas de células B, 4/6 células pequeñas y 1/2 células pequeñas segmentadas difusas (centrocíticas) fueron positivas; mientras que la totalidad de 6 leucemias foliculares, 2 de células grandes difusas y 2 de células pilosas reaccionaron de forma negativa con el anticuerpo (4). En los meningiomas, se documentó el marcado de células T infiltradas con el anticuerpo en 29 de 34 casos (7). En un análisis inmunohistoquímico que incluyó 51 casos de múltiple mieloma (plasmacitoma), se observó marcado positivo con el anticuerpo DF-T1 en el 59% de los casos (8). Se observó el descenso de la expresión de la molécula CD43 en la mayoría de las células hematopoyéticas en 3 de 32 pacientes aquejados del síndrome mielodisplásico (9).

Referencias bibliográficas

1. Leong A, Cooper K, Leong F. Manual of diagnostic antibodies for immunohistology. 2nd edition. Greenwich Medical Media 2003. p. 167-170
2. Horejsi V. CD guide. CD43. In: Mason D, André P, Bensussan A, Buckley C, Civin C, Clark E, et al., editors. Leucocyte typing VII. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 7th International Workshop and Conference; 2000 Jun 19-23; Harrogate, United Kingdom. New York: Oxford University Press Inc.; 2002. p. 790-1.
3. Ostberg JR, Barth RK, Frelinger JG. The Roman god Janus: a paradigm for the function of CD43. Immunology Today 1998;19:546-50.

Dako Denmark A/S │ Produktionsvej 42 │ DK-2600 Glostrup │ Denmark │ Tel. +45 44 85 95 00 │ Fax +45 44 85 95 95 │ CVR No. 33 21 13 17

4. Stross WP, Warnke RA, Flavell DJ, Flavell SU, Simmons D, Gatter KC, et al. Molecule detected in formalin fixed tissue by antibodies MT1, DF-T1, and L60 (Leu-22) corresponds to CD43 antigen. J Clin Pathol 1989;42:953-61. 1.
5. de Smet W, Walter H, van Hove L. A new CD43 monoclonal antibody induces homotypic aggregation of human leucocytes through a CD11a/CD18-dependent and -independent mechanism. Immunology 1993;79:46-54.
6. Beschorner R, Horny HP, Petruch UR, Kaiserling E. Frequent expression of haemopoietic and non-haemopoietic antigens by reactive plasma cells: an immunohistochemical study using formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. Histol Histopathol 1999;14:805-12.
7. Bø L, Mørk SJ, Nyland H. An immunohistochemical study of monuclear cells in meningiomas. Neuropathol Appl Neurobiol 1992;18:548-58.
8. Petruch UR, Horny HP, Kaiserling E. Frequent expression of haemopoietic and non-haemopoietic antigens by neoplastic plasma cells: an immunohistochemical study using formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. Histopathology 1992;20:35-40.
9. Kyriakou DS, Alexandrakis M, Tzardi M, Stephanaki D, Eliopoulos GD. Downregulation of CD43 in RAEB and RAEB-T patients. Report of 3 cases. Am J Hematol 2000;63:20-7.

Explicación de los símbolos

REF	Referencia	2 °C 8 °C	Limitación de temperatura		Fecha de caducidad
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*	Σ	Contiene suficiente para <n> ensayos		Fabricante
	Consulte las instrucciones de uso	LOT	Código del lote		

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17